Aus dem Institut für Hirnforschung der Universität Tübingen
- Korbinian-Brodmann-Haus -
Direktor: Professor Dr. med. J. Peiffer

Polarisationsoptische und histochemische Untersuchungen über das Verhalten der Lipide bei Waller'scher Faserdegeneration am Nervus opticus der Ratte

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Peter Mayer-Rosa
aus Freiburg i. Br.

1970

Aus dem Institut für Hirnforschung der Universität Tübingen
- Korbinian-Brodmann-Haus -
Direktor: Professor Dr. med. J. Peiffer

Polarisationsoptische und histochemische Untersuchungen über das Verhalten der Lipide bei Waller'scher Faserdegeneration am Nervus opticus der Ratte

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Peter Mayer-Rosa
aus Freiburg i. Br.

1970

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. med. K. Mörike

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. med. W. Schlote
2. Berichterstatter: Professor Dr. med. J. Peiffer

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG · Tübingen

Meinem Vater in Dankbarkeit
gewidmet.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S .

	Seite
A) EINLEITUNG	1
B) METHODIK	
I. Gewinnung des Untersuchungsmaterials	2
II. Herstellung der Schnittpräparate	3
III. Angewandte Untersuchungen	3
C) BEFUNDE	
I. Normaler N.opticus	7
II. 24 Stunden nach Durchtrennung	9
III. 3 Tage nach Durchtrennung	9
IV. 10 Tage nach Durchtrennung	10
V. 20 Tage nach Durchtrennung	11
VI. 1 Monat nach Durchtrennung	13
VII. 2 Monate nach Durchtrennung	14
VIII. 3 Monate nach Durchtrennung	15
IX. Graphische Zusammenfassung der Befunde	16
D) DISKUSSION	
I. Vorgänge bei sekundärer Faserdegeneration.	
a) Histologische Veränderungen an Markscheiden und Neuroglia	21
b) Histochemische Veränderungen	23
Acetalphosphatide	23
Phospholipide	23
Cerebroside	24
Triglyzeride und Cholesterinester	25
c) Ausbreitungsrichtung der sekundären Degeneration	26
II. Vorgänge im Bereich der mechanisch bedingten Nekrobiose	27
III. Vergleich zwischen sek. Degeneration am N.opticus und jener am peripheren Nerv	29
E) ZUSAMMENFASSUNG	31
F) LITERATURVERZEICHNIS	33

A) EINLEITUNG

Das Phänomen der sekundären Faserdegeneration (WALLER, 1850, 1852) gehört wohl mit zu den am besten und am häufigsten untersuchten Veränderungen der Nervenfaser überhaupt. Stellvertretend für viele, schon etwas länger zurückliegende Untersuchungen sei hier nur die Arbeit von A. JAKOB (1912) erwähnt. In neuerer Zeit wurde dieses Problem elektronenmikroskopisch (S.A. LUSE und R.E. McCAMAN 1957, E. TANI 1964, U.J. McMAHAN und R.J. BARRNETT 1966, W. SCHLOTE 1969) und vor allem auch histochemisch untersucht (N.S. BURT et al. 1950, A.C. JOHNSON et al. 1950, C.R.NOBACK und W. MONTAGNA 1952, C.R.NOBACK und J.A.REILLY 1956, R.E.McCAMAN und E. ROBINS 1958 und 1959, C.W.M.ADAMS 1962, E.THOMAS 1969). Die histochemischen Untersuchungen der zuletzt genannten Autoren beziehen sich aber ausnahmslos auf die Veränderungen am peripheren Nerv. Elektronenmikroskopische bzw. biochemische Untersuchungen am N.opticus sind von S.A. LUSE und R.E. McCAMAN (1957) und von R.E. McCAMAN und E. ROBINS (1958, 1959) durchgeführt worden. Letztere Autoren benützten jedoch Kaninchen als Versuchstiere; nach C.R.NOBACK und J.A.REILLY (1956) soll die sekundäre Degeneration bei Ratten etwas rascher vor sich gehen als bei anderen Tierspezies. Es kam uns daher in unseren Untersuchungen darauf an, die Vorgänge bei sekundärer Degeneration am N.opticus der Ratte histologisch, polarisationsoptisch und histochemisch zu erfassen, um sie dann mit den Befunden am peripheren Nerv und bei anderen Tierspezies vergleichen zu können.

Der Streit, ob die sekundäre Degeneration an der Nervenfaser proximo-distal oder aber simultan abläuft, ist seit den Untersuchungen von G.H.PARKER und V.L.PAINE (1934) im Gange und wurde in der Folgezeit noch mehrmals aufgenommen (P.WEISS 1944, G.CAUSEY und E.PALMER 1950). Die neueren elektronenmikroskopischen Forschungen von W.SCHLOTE (1969) sprechen zu Gunsten eines simultanen Markscheidenabbaus im gesamten Faserverlauf. Wir haben dieses Problem nochmals, und zwar polarisationsoptisch und histochemisch untersucht, um festzustellen, ob sich diese Ergebnisse auch mit histochemischen Methoden bestätigen lassen.

B) METHODIK.

I. Gewinnung des Untersuchungsmaterials.

Um die histologischen und histochemischen Veränderungen bei WALLER'scher Degeneration im Bereich des Zentralnervensystems möglichst leicht verfolgen zu können, wurde der N.opticus der Ratte als Untersuchungsobjekt gewählt. Die sekundäre Faserdegeneration (WALLER'sche Degeneration) wurde ausgelöst, indem in einer kleinen Operation der N.opticus direkt an seinem Eintritt in den Bulbus durchtrennt wurde (Transsectio retrobulbaris).

Zu diesem Zweck wurde am temporalen Rand der Orbita ein kleiner Hautschnitt durchgeführt. Darauf wurde das Septum orbitale dargestellt und dann vorsichtig durchtrennt, um so an die Seitenwand des Bulbus zu gelangen. Von hier aus wurde weiter in Richtung Sehnerveneintritt präpariert, wobei die Tränendrüse teilweise entfernt und die bindegewebigen Hüllen durchtrennt wurden. Jetzt konnte der bulbusnahe Teil des N.opticus freigelegt werden und wurde nun unter Sicht möglichst nahe am Bulbus durchtrennt. Gelegentlich auftretende Blutungen wurden mit Topostasin rasch zum Stehen gebracht. Einstreuen von Nebacetinpuder, Hautnaht,Abdeckung der Naht mit Nobecutan-Spray.

So wurde bei allen Ratten der Versuchsserie (insgesamt 28) der linke N.opticus durchtrennt. Die Ratten überstanden diesen Eingriff ausnahmslos gut; Komplikationen irgendwelcher Art wurden nicht beobachtet.

Das Fortschreiten der sekundären Degeneration wurde nach 24 Stunden, 3, 10 und 20 Tagen, sowie nach 1, 2 und 3 Monaten kontrolliert. An jedem der genannten Zeitpunkte wurden zu diesem Zweck vier Ratten in leichter Narkose dekapitiert. Entnahme der Gehirne einschließlich der beiden Nervi optici. An jedem Hirn wurde der degenerierte N.opticus, Chiasma opticum und ein Stück des zum degenerierten Nerv gehörigen, gekreuzten Tractus opticus in toto herauspräpariert. Dieser Teil der Sehbahn wurde dann in drei Abschnitte geteilt:

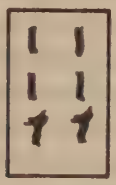
Abschnitt 1 = bulbusnahe Hälfte des N.opticus
Abschnitt 2 = chiasmanahe Hälfte des N.opticus
Abschnitt 3 = Chiasma opticum und ein Stück des gekreuzten Tractus opticus

II. Herstellung der Schnittpräparate.

Um optimale Längsschnitte von den einzelnen Opticusabschnitten zu erhalten, wurden zwei verschiedene Techniken angewandt.

a) Von zwei Ratten wurde jeder der drei Opticusabschnitte sofort nach der Präparation auf Schneidetische des Pearse-Kryostaten aufgefroren und unmittelbar dänach geschnitten und auf Objektträger aufgezogen. Die Schnittdicke betrug 8 µ. Es gelang, von jedem der drei Opticusabschnitte jeweils einen Schnitt auf ein und denselben Objektträger aufzuziehen.

Ratte 1 Ratte 2



Abschnitt 1
Abschnitt 2
Abschnitt 3

Anordnung der Schnitte auf dem Objektträger

Auf diese Art und Weise wurden an jedem der genannten Kontrollzeitpunkte etwa 15 Präparate für die später nachfolgenden Färbungen hergestellt. Alle Präparate kamen sofort nach Fertigstellung zur Aufbewahrung in die Tiefkühltruhe (-75°C), wo alle Schnittpräparate der Versuchsserie gesammelt wurden. Die chemische Fixierung des Gewebes erfolgte erst unmittelbar vor den einzelnen Färbungen mit Formol-Calcium (25 ml 40%-iges Formalin + 10 ml einer 10%-igen wässrigen Lösung von wasserfreien $CaCl_2$ + Aqua dest. ad 100 ml).

b) Die Opticusabschnitte der beiden anderen Ratten wurden sofort nach der Präparation in Formol-Calcium fixiert und zunächst aufbewahrt, bis das Material der ganzen Versuchsserie vorlag. Die Herstellung der 8 µ dicken Schnitte von dem chemisch fixierten Gewebe erfolgte dann an einem normalen Gefriermikrotom. Gefrierschnitte von jedem Abschnitt wurden jeweils auf einen Objektträger aufgezogen. Es wurden wie bei a) etwa 15 Präparate hergestellt, die bis zu den einzelnen Färbungen staubgeschützt aufbewahrt wurden.

III. Untersuchungen an den Schnittpräparaten.

a) Histologische Untersuchungen:

1. Kernfärbung mit Kresylviolett

2. HE-Färbung und Auszählung der Gliazellkerne in 0,016 mm^2 mit Hilfe einer Zählkammer (Okular-Netzmikrometer 10 x 10 / 20. Fa. Carl Zeiss, Oberkochen).
3. Färbung nach MASSON-GOLDNER
4. Markscheidenfärbung nach SPIELMEYER
5. Gliafaserfärbung nach HOLZER

b) Histophysikalische Untersuchungen:

1. Polarisationsoptische Analyse der Nativschnitte und Auswertung mit Hilfe des λ/10 Kompensators nach BRACE-KÖHLER (Fa. Carl Zeiss, Oberkochen) im monochromatischen Licht (Präzisionslinienfilter λ max 546 nm, T max 46,5 %) : Durch Einbringen des drehbaren Kompensators in den Strahlengang zwischen Objekt und Analysator kann man denjenigen Winkel bestimmen, um den die Ausbreitungsebene des monochromatischen Lichtes durch die Markscheidenlamellen gedreht wurde. Hat man diesen sogenannten Kompensationswinkel bestimmt, so kann man den durch die Markscheidenlamellen bewirkten Gangunterschied nach der Formel

$$G_o = -G_{komp} \times \sin 2\eta$$ berechnen.

G_{komp} = Gangunterschied des Kompensators bei bestimmter Wellenlänge des Lichtes. (Bei dem benutzten monochromatischen Grünlicht betrug G_{komp} 50,36 nm).

η = Kompensationswinkel

Der Gangunterschied wird in nm angegeben. Unterschiedliche Präparatdicke innerhalb eines Schnittes, die sich bei den angewandten Schnittechniken nicht vermeiden lassen, gehen bei dieser Methode als Fehler ein. Wir versuchten, diesen Fehler soweit als möglich auszuschalten, indem bei jedem Schnitt der Kompensationswinkel an den Markscheiden mehrmals und an verschiedenen Stellen des Schnittes bestimmt wurde. Der Mittelwert diente zur Berechnung des Gangunterschiedes.

2. Auszählung der nadelförmigen, doppelbrechenden Kristalle (Cholesterinester) pro Gesichtsfeld bei 200-facher Vergrößerung und Identifizierung derselben mit Hilfe der

Schmelzpunktbestimmung und durch polarisationsoptisches Verhalten bei Rotation des Schnittpräparates (M.CLARA 1965. Siehe S. 13).

c) Histochemische Untersuchungen:

1. Plasmal-Reaktion zum histochemischen Nachweis der Acetalphosphatide. Da mit dieser Reaktion relativ frühe Veränderungen der Markscheidenlipide festgestellt werden sollten (E.THOMAS 1969), wurde die Plasmal-Reaktion neben den genannten Zeitpunkten auch nach 24 Stunden durchgeführt.
2. Scharlachrot-Färbung zum histochemischen Nachweis der Triglyzeride und nicht kristallinen Cholesterinester. Die auftretenden Scharlachrot-positiven Makrophagen wurden in 0,0225 mm^2 mit Hilfe einer Zählkammer ausgezählt (Okular-Netzmikrometer 10 x 10 / 20. Fa Carl Zeiss, Oberkochen).
3. Färbung nach WINDAUS zum histochemischen Nachweis von freiem Cholesterin.
4. Histochemischer Nachweis des freien und veresterten Cholesterins nach I.FEIGIN (1956).
5. Färbung nach KLÜVER-BARRERA (1953) zum Nachweis der Phospholipide. (Die Gegenfärbung mit Kresylviolett unterblieb).
6. Färbung mit essigsaurem Kresylviolett nach TH.v.HIRSCH und J.PEIFFER (1955) zum Nachweis saurer Cerebroside. Die auftretenden Makrophagen wurden wie bei 2. ausgezählt.
7. PAS-Reaktion zum histochemischen Nachweis der Glykolipide, d.h. der Cerebroside (Ganglioside sind nur im Axon vorhanden).
8. PAS-Reaktion nach Lipidextraktion mit Methanol/Chloroform im Verhältnis 2:1 (6 Std. bei Zimmertemperatur). Dieses Verfahren wurde durchgeführt, um andere PAS-positive Substanzen nicht lipidartigen Charakters erfassen zu können. Nach Anwendung dieser Methode hoben sich die auftretenden stark PAS-positiven Makrophagen deutlich von dem hellen Untergrund ab und wurden wie bei 2. ausgezählt; der Inhalt dieser Zellen hielt also der Lösungsmittelvorbehandlung stand. (Bei der Reaktion nach 7. waren diese Zellen

zwischen den ebenfalls kräftig reagierenden Markscheidenteilen nur schwer auszumachen).

C) B E F U N D E .

Der Nachweis des freien Cholesterins nach der WINDAUS'schen Methode ließ an keinem Schnitt eine positive Reaktion erkennen. Daraufhin wurde die Methode nach FEIGIN zum histochemischen Nachweis des freien und veresterten Cholesterins herangezogen. Aber auch mit dieser Methode zeigte sich an keinem Schnitt eine positive Reaktion. Eine Auswertung der Präparate war also nicht möglich.

Die Auswertung der einzelnen Abschnitte und ihr Vergleich miteinander zeigte an keinem der Kontrollzeitpunkte einen signifikanten Unterschied zwischen proximalen und distalen Abschnitten. Die sekundäre Faserdegeneration verläuft also in der Zeiteinheit weder zellulifugal noch zellulipetal; sie schreitet vielmehr gleichmäßig im gesamten Nerven fort. Lediglich der Bereich, in dem der N.opticus bei der Operation durchtrennt wurde, zeigt ein unterschiedliches Verhalten, da es sich hier um eine direkte, traumatisch bedingte Nekrobiose der Marksubstanz handelt. In der nachfolgenden Befunderhebung wird deswegen nur noch zwischen Verletzungs- bzw. Durchtrennungsbereich und restlichem N.opticus unterschieden; es werden also jeweils die direkte, traumatische Nekrobiose und die indirekte, sekundäre Faserdegeneration einander gegenübergestellt. Auf die ursprüngliche Unterteilung in 3 Abschnitte wird nur gelegentlich eingegangen.

I. Normaler N.opticus.

Der normale N.opticus hat eine Länge von ca. 10 mm und einen Durchmesser von ca. 0,45 mm.

a) Histologie:

In der Kresylviolett- und HE-Färbung ist die Anordnung der Zellkerne deutlich zu erkennen. Einige wenige Kerne liegen jeweils perlschnurartig hintereinander aufgereiht zwischen den einzelnen Markscheidenbündeln; die Kernreihen liegen relativ weit auseinander. Kernzahl: 21 in 0,016 mm^2.

In der MASSON-GOLDNER-Färbung sind die Markscheiden kräftig rot gefärbt. Sie bilden Bündel, welche kontinuierlich den ganzen Schnitt durchziehen. Zwischen den einzelnen Markscheidenbündeln

sieht man schmale, grüngefärbte plasmatische Gliazellanteile.

In der Markscheidenfärbung nach SPIELMEYER kommen die Markscheiden kräftig blauschwarz zur Darstellung. Sie verlaufen gleichmäßig parallel und leicht gewellt durch den ganzen Schnitt.

Bei Gliafaserdarstellung nach HOLZER sind die Gliazellen selektiv angefärbt und veranschaulichen die oben genannte Anordnung der Zellen (Siehe Abb. 1). Es handelt sich hauptsächlich um Astrozyten vom Fasertyp; man erkennt deutlich die zarten Gliafibrillen, die sich senkrecht zum Faserverlauf der Markscheiden ausbreiten.

b) Polarisationsoptische Analyse:

Im polarisationsoptischen Bild leuchten die Markscheidenbündel überall kräftig auf (Optische Anisotropie der normalen-Markscheide. Siehe Abb. 2). Die quer zur Faserrichtung verlaufenden, nicht doppelbrechenden „Septen" kommen dadurch zustande, daß die Markscheiden nach der Entnahme des N.opticus und nach der Fixierung einen gewellten Verlauf angenommen haben; sie leuchten daher nicht in ihrer ganzen Kontinuität auf. Dieser Effekt summiert sich von Markscheide zu Markscheide, und so entstehen diese schwarzen „Querbänder", die nicht mit den Gliafasern verwechselt werden dürfen.

Der Kompensationswinkel der normalen Markscheiden beträgt unter den angeführten präparativen Bedingungen $11^{o}2o'$, was einem Gangunterschied von 19,4 nm entspricht.

c) Histochemische Befunde:

Plasmal-Reaktion: Im ganzen N.opticus sind die Markscheiden als Ausdruck der positiven Reaktion kräftig rotviolett angefärbt; die Kontrollreaktion ohne $HgCl_2$-Vorbehandlung ergibt nur eine sehr blasse rotviolette Anfärbung der Markscheiden.

Scharlachrot-Färbung: Im normalen N.opticus sind keine Scharlachrot-positiven Substanzen zu beobachten.

Färbung nach KLÜVER-BARRERA: Als Ausdruck der positiven Farbreaktion sind die Markscheiden überall relativ kräftig blaugrün angefärbt (Siehe Abb. 3).

Färbung nach v.HIRSCH-PEIFFER: Die Markscheiden sind intensiv blaurot angefärbt.

PAS-Reaktion: Die Markscheiden sind intensiv rotviolett gefärbt.

Die Vergrößerungsangaben unter den Abbildungen 1 - 14 bezogen sich auf die der Druckerei übergebenen Aufnahmen, diese wurden jedoch um 30% verkleinert im Buch wiedergegeben.

Abb. 1 : Normaler N.opticus. Gliafaserfärbung nach HOLZER. Vergr. 200-fach.

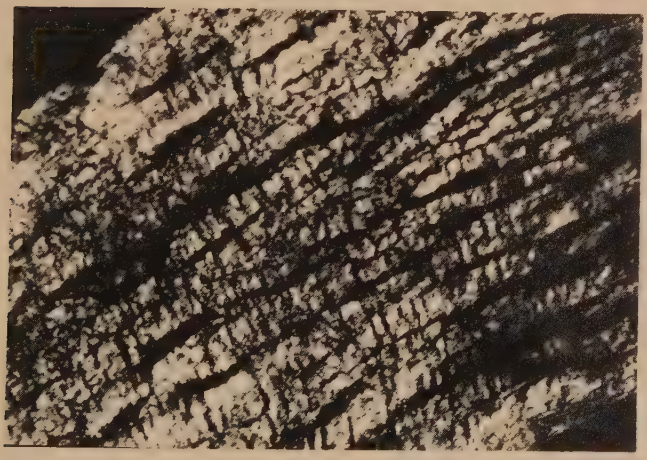


Abb. 2 : Normaler N.opticus. Polarisationsoptische Aufnahme. Vergr. 200-fach.

PAS-Reaktion nach Lipidextraktion: Der Nerv ist nur noch blaß rosarot gefärbt.

II. Befunde nach 24 Stunden.

Zu diesem Zeitpunkt wurde nur die Plasmal-Reaktion durchgeführt. Es zeigten sich keine Unterschiede gegenüber dem normalen Nerven.

III. Befunde nach 3 Tagen.

Bei makroskopischer Betrachtung läßt sich der degenerierte Nerv nicht vom normalen unterscheiden.

a) Histologie:

Im Bereich der Durchtrennung ist die traumatisch bedingte Nekrobiose rasch fortgeschritten; sie ist hier vornehmlich an den zentral gelegenen Markscheiden ca. 0,6 mm in den Nerven vorgedrungen, so daß ein kegelförmiger Nekrobioseherd vorliegt. In der Kresylviolett-, HE- und auch in der HOLZER-Färbung sieht man hier eine starke Zellkernvermehrung der Glia und des Mesenchyms. Die Markscheiden sind weitgehend zerfallen, wie die MASSON-GOLDNER- und die Markscheidenfärbung nach SPIELMEYER zeigt.

Die Veränderungen im übrigen Nerven, also am Ort der sekundären Degeneration sind dagegen noch sehr diskret. Kresylviolett- und HE-Färbung weisen eine geringgradige Kernvermehrung der Glia auf: 25 Kerne in 0,016 mm^2. Die Färbungen nach MASSON-GOLDNER und SPIELMEYER zeigen bei Übersichtsvergrößerung ein etwas unruhigeres Bild; Die Markscheidenbündel sind aufgelockert.

b) Polarisationsoptische Analyse:

Im Bereich der traumatischen Nekrobiose ist nur noch vereinzelt doppelbrechende Substanz vorhanden. Im Bereich der sekundären Degeneration leuchten die Markscheiden unvermindert stark auf. Man bemerkt aber, daß die dunklen, optisch isotropen Bereiche zugenommen haben. Der Kompensationswinkel beträgt $9^{o}40'$, was einem Gangunterschied von 16,7 nm entspricht.

c) Histochemische Befunde.

Die Plasmal-Reaktion ist gegenüber dem Befund nach 24 Stunden unverändert geblieben.

Scharlachrot-Färbung: Scharlachrot-positive Makrophagen kommen nur im Nekrobiosekegel an der Durchtrennungsstelle vor. Hier befinden sich einige Zellkerne, die von orangerot gefärbten Granula umgeben sind. Der Bereich der sekundären Degeneration ist frei von solchen Makrophagen.
Färbung nach KLÜVER-BARRERA: Auch bei dieser Färbung erkennt man den ca. 0,6 - 0,7 mm in den Nerv hineinreichenden Nekrobisebereich; er ist stark abgeblaßt. Die Farbintensität im Bereich der sekundären Degeneration hat ebenfalls geringgradig abgenommen.
Färbung nach v.HIRSCH-PEIFFER: Keine Abnahme der Farbintensität. Die vorhandenen Markscheiden sind unverändert intensiv gefärbt.
PAS-Reaktion: Der Nekrobiosebereich tritt auch bei dieser Färbung durch einen starken Verlust an Farbintensität in Erscheinung. Am Ort der sekundären Degeneration sind die Markscheiden unverändert intensiv gefärbt.
PAS-Reaktion nach Lipidextraktion: Im Nekrobiosekegel findet man zahlreiche PAS-positive Makrophagen. Der Bereich der sekundären Degeneration ist frei von Makrophagen.

IV. Befunde nach 10 Tagen.

Makroskopisch weist der degenerierte Nerv jetzt einen leichten Grauschimmer auf; sein Durchmesser entspricht aber noch dem des normalen N.opticus.

a) Histologie:

Kresylviolett-, HE- und Gliafaserfärbung zeigen einen erneuten geringen Anstieg der Gliakernzahlen: 28 Kerne in 0,016 mm^2. Die Zellkerne sind aber jetzt nicht mehr so streng in Reihen angeordnet, sondern die Zellkernvermehrung beginnt diffus zu werden. Die Struktur hat sich weiter aufgelockert. In der MASSON-GOLDNER-Färbung haben die grüngefärbten Gewebsanteile, die plasmatische Gliazellfortsätze anzeigen, zugenommen. Die Markscheidenfärbung nach SPIELMEYER zeigt einen Markscheidenzerfall; die Markfasern verlaufen nicht mehr streng parallel, die Markscheidenbündel weisen Unterbrechungen auf (Markballenbildung).

b) Polarisationsoptische Analyse:

Spiegelt den Befund der Markscheidenfärbung wider. Neue, optisch isotrope, nicht doppelbrechende Bezirke sind hinzugekommen.

Die Ränder der einzelnen Markscheidenbündel verlaufen oft nicht mehr kontinuierlich. Die Leuchtkraft hat insgesamt etwas abgenommen. Der Kompensationswinkel der restierenden Markscheiden beträgt $7^{o}20'$, entsprechend einem Gangunterschied von 12,8 nm.

c) Histochemische Befunde:

Die Plasmal-Reaktion ist gegenüber dem Befund nach 3 Tagen unverändert.

Scharlachrot-Färbung: Im Bereich der traumatischen Nekrobiose ist fast jeder Zellkern von Scharlachrot-positiven Granula umgeben. Der Bereich der sekundären Degeneration ist frei von Fettkörnchenzellen.

Färbung nach KLÜVER-BARRERA: Der Bereich der traumatisch bedingten Nekrobiose hat sich ca. 1,8 - 2 mm in den Nerv hinein ausgedehnt und erscheint blaß angefärbt. Die Farbintensität am Ort der sekundären Degeneration hat weiter geringgradig abgenommen. Die Markscheiden haben nicht nur zahlenmässig abgenommen, sondern die noch vorhandenen Markscheiden sind etwas blasser gefärbt.

Färbung nach v.HIRSCH-PEIFFER: Kein Unterschied in der Farbintensität der Markscheiden gegenüber dem Befund nach 3 Tagen.

PAS-Reaktion: Wie bei der KLÜVER-BARRERA-Färbung erscheint auch bei der PAS-Reaktion der traumatisch bedingte Nekrobiosebereich stark abgeschwächt gefärbt. Im Bereich der sekundären Degeneration erscheinen die Markscheiden weiterhin intensiv gefärbt.

PAS-Reaktion nach Lipidextraktion: Färbung unverändert. PAS-positive Makrophagen vermehrt: 15 in 0,0225 mm^2 im Durchtrennungsbereich, 1 - 2 in 0,0225 mm^2 im Bereich der sekundären Degeneration.

V. Befunde nach 20 Tagen.

Makroskopisch läßt sich der degenerierte N.opticus nach 20 Tagen deutlich vom normalen unterscheiden; er weist einen Grauschimmer auf, sein Durchmesser hat etwas abgenommen.

a) Histologie:

Der Bereich der traumatisch bedingten Nekrobiose hat sich weiter ausgedehnt; dieser Bereich ist beinahe vollständig von gliösen und mesenchymalen Zellen ausgefüllt. Im Bereich der se-

kundären Degeneration zeigen Kresylviolett- und HE-Färbung eine weitere Gliazellkernvermehrung: 30 - 32 Zellkerne in 0,016 mm^2. Die Verteilung der Kerne ist nahezu diffus. Die Markscheiden haben weiter an Zahl abgenommen; stellenweise sind größere Lücken entstanden. Die einzelnen Markscheidenbündel sind vielfach unterbrochen und meist unscharf begrenzt. Die Markballen haben elliptische oder kugelige Formen von verschiedener Größe angenommen.

Färbung nach HOLZER: Neben den Gliazellkernen haben sich auch die Gliafasern vermehrt; sie bilden jetzt ein Netzwerk.

b) Polarisationsoptische Analyse:

Im Vergleich zum normalen Nerven sind deutliche Markscheidenveränderungen zu erkennen. Die Leuchtkraft der Markfasern hat stark abgenommen. Breite, nicht doppelbrechende Streifen sind entstanden. Der Verlauf der Markscheiden ist meist nicht mehr kontinuierlich, so daß bei stärkerer Vergrößerung ein unruhiges und ungleichmässiges Bild vorliegt.(Siehe Abb.4) Der Kompensationswinkel beträgt $5^{o}10'$, entsprechend einem Gangunterschied von 9 nm.

c) Histochemische Befunde:

Plasmal-Reaktion unverändert.

Scharlachrot-Färbung: Gleiche Befunde wie nach 10 Tagen. Die Scharlachrot-positiven Makrophagen haben lediglich an Farbintensität zugenommen; Fettkörnchenzellen im Nekrobiosebereich.

Färbung nach KLÜVER-BARRERA: deutliche Abblassung der Färbung; die Markscheiden und Markscheidenfragmente sind deutlich schwächer gefärbt als nach 10 Tagen. Der Farbintensitätsverlust dürfte ca. 50 % betragen. Die Gliazellen enthalten häufig intensiv gefärbte Granula.

Färbung nach v.HIRSCH-PEIFFER: Die vorhandenen Markscheiden sind unverändert intensiv gefärbt. Vereinzelt Makrophagen.

PAS-Reaktion: Der Nekrobiosebereich ist kaum mehr gefärbt.Die Markscheiden im Bereich der sekundären Degeneration sind unvermindert intensiv gefärbt.

PAS-Reaktion nach Lipidextraktion: Farbreaktion unverändert. PAS-positive Makrophagen vermehrt: 40 in 0,0225 mm^2 im Bereich der Nekrobiose und 4 - 6 in 0,0225 mm^2 im Bereich der sek. Degeneration.

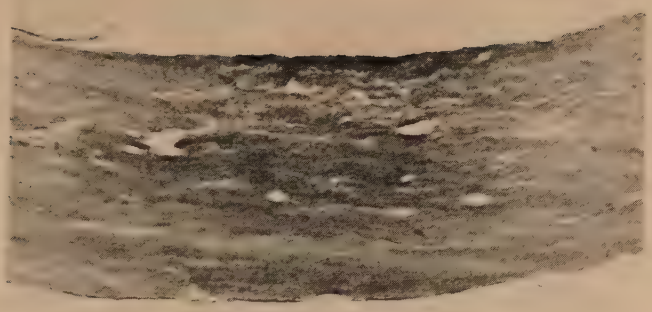


Abb. 3 : Normaler N.opticus. Färbung nach KLÜVER-BARRERA. Vergr. 62-fach.

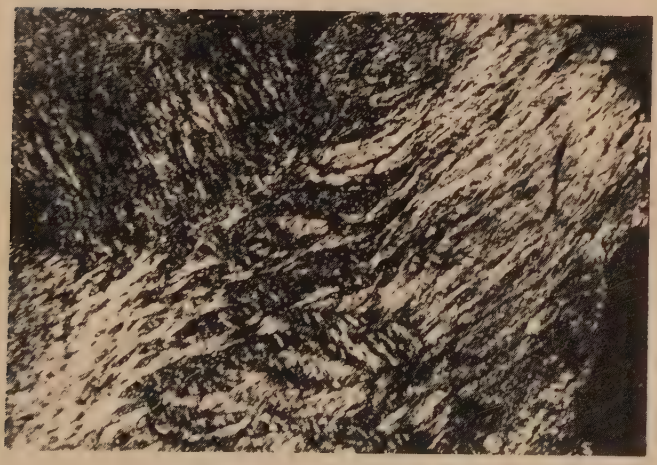


Abb. 4 : Chiasma opticum nach 20-tägiger sek. Degeneration. Polarisationsoptische Aufnahme. Der degenerierte N.opticus verläuft von links oben nach rechts unten. Vergr. 80-fach.

VI. Befunde nach 1 Monat.

Bei makroskopischer Betrachtung zeigt der degenerierte Nerv einen Grauton; sein Durchmesser hat um ca. 1/5 abgenommen.

a) Histologie:

Kresylviolett- und HE-Färbung zeigen gegenüber den Befunden nach 20 Tagen eine stärkere Zellkernvermehrung im Bereich der sekundären Degeneration: 40 Kerne in 0,016 mm^2. Die Verteilung der Kerne ist fast nur noch diffus. Die Zahl der intakten Markscheiden hat abgenommen; die Markscheidenbündel sind schmäler geworden und verlaufen nicht mehr kontinuierlich.Die Myelinfragmente haben oft granuläre Form.

Gliafaserfärbung: Die Gliafasern bilden ein dichtes Netz.

b) Polarisationsoptische Analyse:

Das polarisationsoptische Bild stellt ein Negativ der Markscheidenfärbung dar. Die Markscheidenbündel sind schmäler geworden; der Verlauf ist nicht mehr kontinuierlich. Nicht doppelbrechende Streifen und Bänder durchziehen oft ohne Unterbrechung den ganzen Schnitt. Der Kompensationswinkel beträgt $4^{\circ}40'$, was einem Gangunterschied von 8,1 nm entspricht.

Vereinzelt findet man stark doppelbrechende Kristalle, die bei Rotation des Schnittes um 360° viermal aufleuchten und auslöschen. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 58 - $60^{\circ}C$. Bei Erreichen des Schmelzpunktes verschwinden die Kristalle, d.h. sie verlieren ihre doppelbrechende Eigenschaft und erscheinen bei Abkühlung als Sphärokristalle wieder. Die Sphärokristalle weisen zwischen gekreuzten Polarisatoren ein rotationsunabhängiges Malteserkreuz auf. (Siehe Abb. 11) Es handelt sich daher mit großer Wahrscheinlichkeit um Cholesterinesterkristalle (M.CLARA 1965).

c) Histochemische Befunde:

Scharlachrot-Färbung: Die Befunde entsprechen denen nach 20 Tagen. Die Fettkörnchenzellen im Bereich der Nekrobiose sind lediglich erneut intensiver gefärbt. Im Bereich der sekundären Degeneration sind keine Scharlachrot-positiven Makrophagen anzutreffen.

Färbung nach KLÜVER-BARRERA: Die noch verbliebenen Markscheiden und Markscheidenfragmente zeigen in etwa das gleiche Färbeverhalten wie nach 20 Tagen. Man findet aber mehr deutlich granulierte Makrophagen.

Färbung nach v.HIRSCH-PEIFFER: Färbung etwas blasser. Im ganzen Nerven findet man intensiv blaurot gefärbte Makrophagen: Im Nekrobiosebereich 10 in 0,0225 mm^2, im Bereich der sekundären Degeneration 4 in 0,0225 mm^2.
PAS-Reaktion: Die vorhandenen Markscheiden sind unverändert intensiv gefärbt. Der Eindruck der Abblassung in der Übersichtsvergrößerung entsteht, weil weniger Markscheiden vorhanden sind.
PAS-Reaktion nach Lipidextraktion: Die blasse, nur angedeutete Farbreaktion ist unverändert. Die Makrophagen sind kräftig PAS-positiv. Im Nekrobiosebereich findet man ganze Verbände solcher Markophagen. Im Bereich der sekundären Degeneration zählt man 8 PAS-positive Makrophagen in 0,0225 mm^2.

VII. Befunde nach 2 Monaten.

Makroskopisch erscheint der degenerierte Nerv in einem grauen Farbton; sein Durchmesser hat etwa um 1/4 abgenommen.
a) Histologie:

Kresylviolett-, HE- und MASSON-GOLDNER-Färbung weisen eine weitere leichte Gliazellkernvermehrung auf: 45 Zellkerne in 0,016 mm^2. Die rotgefärbten Markscheiden in der MASSON-GOLDNER-Färbung sind recht spärlich geworden, so daß die grüngefärbten Gewebsteile im Nerven an manchen Stellen vorherrschen.

Dasselbe Bild zeigt auch die Markscheidenfärbung. Beim Vergleich von degeneriertem mit normalem N.opticus im Bereich des Chiasmas wird der Unterschied deutlich: Der Verlauf der Markscheiden ist nicht mehr kontinuierlich; es liegen neben den Myelingranula nur noch mehr oder weniger lange Bruchstücke vor.
(Siehe Abb. 5)
Gliafaserfärbung nach HOLZER: Der ganze Nerv ist praktisch von Gliazellen und von dem Geflecht der Gliafasern ausgefüllt.
b) Polarisationsoptische Analyse:

Die Markscheiden leuchten nur noch stellenweise schwach auf. Die Markscheidenbündel sind schmal und verlaufen nur kurze Strecken kontinuierlich; sie sind oft unregelmäßig konturiert. Der Kompensationswinkel beträgt $3^{\circ}40'$, entsprechend einem Gangunterschied von 6,4 nm.

Der degenerierte Nerv ist von stark doppelbrechenden Chole-

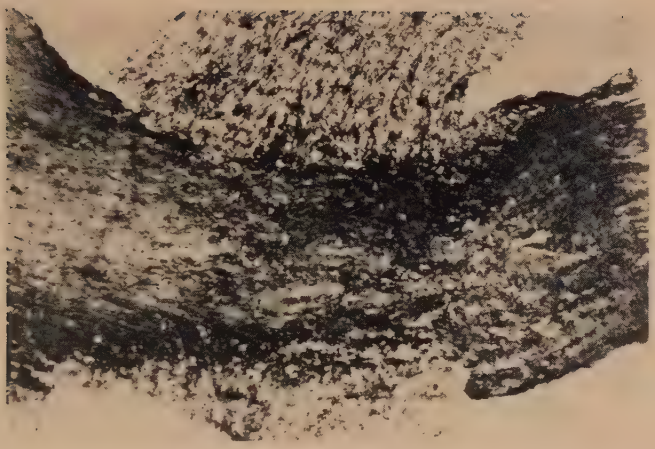


Abb. 5 : Chiasma opticum nach 2-monatiger sek. Degeneration. Markscheidenfärbung nach SPIELMEYER. Der degenerierte N.opticus verläuft von oben nach unten. Vergr. 62-fach.

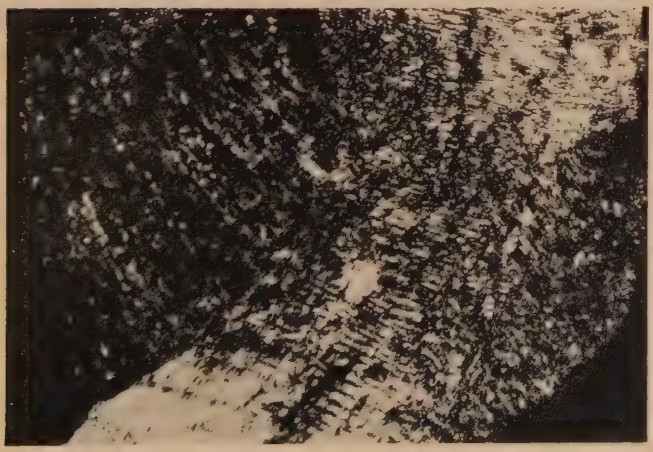


Abb. 6 : Chiasma opticum nach 2-monatiger sek. Degeneration. Polarisationsoptische Aufnahme. Der degenerierte, von Cholesterinesterkristallen überzogene N.opticus verläuft von links oben nach rechts unten. Vergr. 80-fach.

sterinesterkristallen überzogen. (Siehe Abb. 6)
c) Histochemische Befunde:

Scharlachrot-Färbung: Die Scharlachrot-positiven Fettkörnchenzellen im Bereich der traumatischen Nekrobiose sind verschwunden. Im Bereich der sekundären Degeneration tauchen jetzt vereinzelt Scharlachrot-positive Makrophagen auf.
Färbung nach v.HIRSCH-PEIFFER: Die Intensität der Färbung ist unverändert. Mehr Makrophagen: 8 in 0,0225 mm^2.
Färbung nach KLÜVER-BARRERA: Die vorhandenen Markscheidenfragmente sind nur noch schwach angefärbt. Zellen mit intensiv gefärbten Granula erneut vermehrt.
PAS-Reaktion: Die Färbung der restierenden Markscheiden ist unverändert intensiv; es ist also noch relativ viel PAS-positive Substanz vorhanden. (Siehe Abb. 7)
PAS-Reaktion nach Lipidextraktion: Färbung unverändert blaß. Ca. 8 - 10 PAS-positive Makrophagen in 0,0225 mm^2. (Siehe Abb. 8)

VIII. Befunde nach 3 Monaten.

Makroskopisch erscheint der degenerierte Nerv grau; sein Durchmesser hat um ein Drittel abgenommen.
a) Histologie:

Gliazellkerne haben sich weiter vermehrt: 50 - 52 Zellkerne in 0,016 mm^2. In der MASSON-GOLDNER-Färbung herrscht der grüne Farbton vor. Es liegen nur noch jeweils einige wenige Markscheiden beisammen, die dann eine kurze Strecke kontinuierlich verlaufen.

Bei der Markscheidenfärbung nach SPIELMEYER kommen noch etwas mehr Markscheiden zur Darstellung. (Siehe Abb. 9)
Gliafaserfärbung: Man hat den Eindruck, daß der ganze Nerv von Gliazellen und von dem Gliafasernetz ausgefüllt ist.
b) Polarisationsoptische Analyse:

Nur noch kurze Bruchstücke von Markscheidenbündeln leuchten schwach auf. Der Kompensationswinkel beträgt $2^{\circ}30'$, was einem Gangunterschied von 4,3 nm entspricht.

Der ganze Nerv ist dicht von stark doppelbrechenden Cholesterinesterkristallen übersät. (Siehe Abb. 10 und 11)

c) Histochemische Befunde:

Scharlachrot-Färbung: Im ganzen Nerven findet man Scharlachrot-positive Makrophagen: 6 in 0,0225 mm^2.

Färbung nach KLÜVER-BARRERA: Die wenigen Markscheidenfragmente sind sehr blaß und kaum angedeutet gefärbt. Intensiv gefärbte Makrophagen vermehrt (Siehe Abb. 12).

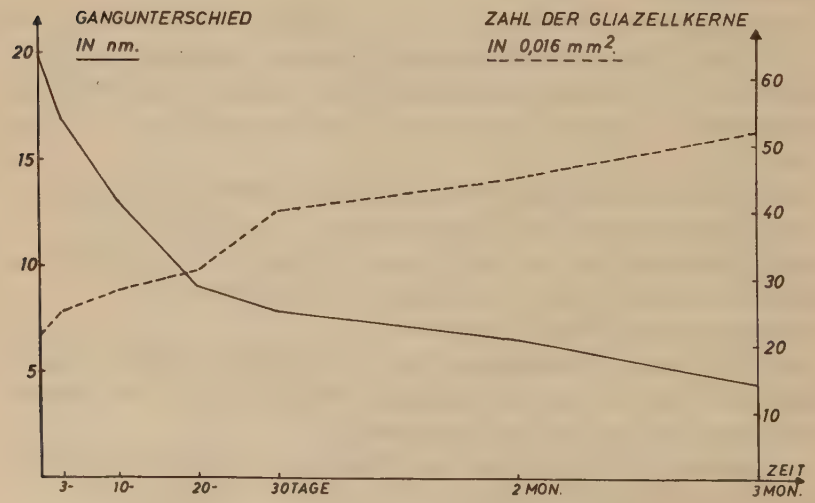
Färbung nach v.HIRSCH-PEIFFER: Das Färbeverhalten der Markscheidenfragmente ist unverändert. Die Zahl der Makrophagen hat geringgradig zugenommen.

PAS-Reaktion: Die Markscheidenfragmente sind unvermindert kräftig gefärbt. Im Vergleich zur KLÜVER-BARRERA-Färbung ist noch viel färbbare Substanz vorhanden.

PAS-Reaktion nach Lipidextraktion: Die Färbung ist unverändert blaß. PAS-positive Makrophagen weiter erhöht: 10 - 14 in 0,0225 mm^2.

IX. Graphische Zusammenfassung der Befunde.

a) Verhalten der Gliazellen und Abnahme des Gangunterschiedes bei sekundärer Degeneration:



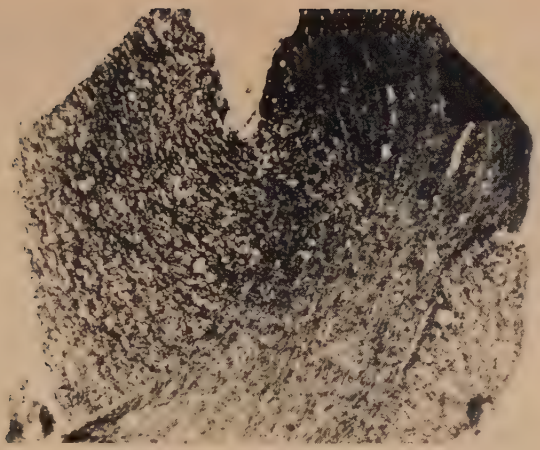


Abb. 7 : Chiasma opticum nach 2-monatiger sek. Degeneration. PAS-Reaktion. Der degenerierte N. opticus verläuft von links oben nach rechts unten. Vergr. 62-fach.

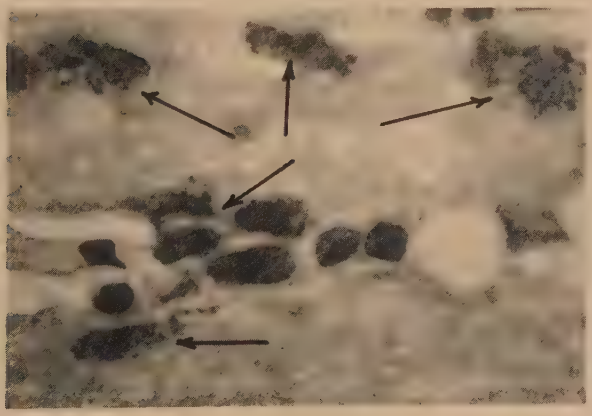
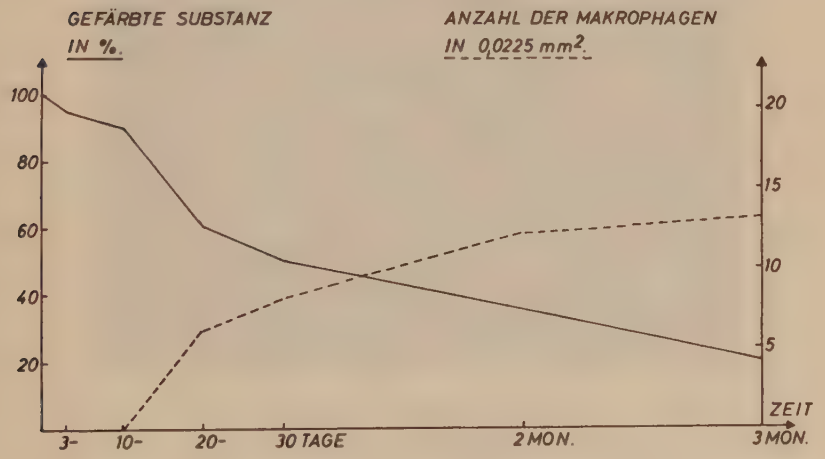


Abb. 8 : N.opticus nach 2-monatiger sek. Degeneration. PAS-Reaktion nach Lipidextraktion. Die Pfeile markieren die intensiv PAS-positiven Makrophagen. Vergr. 1250-fach.

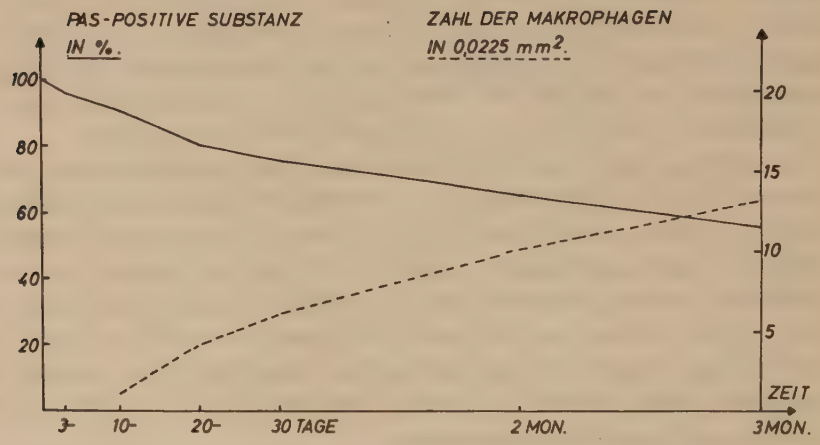
Der Markscheidenzerfall induziert im Verlauf des ersten Monates eine relativ rasche Gliazellvermehrung; in den folgenden zwei Monaten vermehren sich die Gliazellen langsamer. Sie haben die Aufgabe, erstens die durch den Markscheidenzerfall entstandenen Lücken auszufüllen und zweitens für den Abtransport der Myelinabbauprodukte zu sorgen. Um letzteres bewerkstelligen zu können, entwickelt sich ein Teil der Gliazellen zu Makrophagen.

Die Doppelbrechung wird durch die lamelläre Anordnung der Markscheidenlipoproteidkomplexe verursacht. Die Kompensation der Doppelbrechung ergibt eine relativ rasche Abnahme des Gangunterschiedes der Markscheiden innerhalb des ersten Monats; in den folgenden beiden Monaten nimmt der Gangunterschied nur noch allmählich ab. Daraus ist zu schließen, daß die Anordnung der Markscheidenlamellen zu einem großen Teil innerhalb des ersten Monats verändert wird. Die vollständige Desintegration ist aber nach 3 Monaten noch nicht abgeschlossen.

b) Verhalten der Phospholipide an Hand der Färbung nach KLÜVER-BARRERA:



c) Verhalten der PAS-positiven Substanzen:



d) Verhalten der Cholesterinesterkristalle im Bereich der sekundären Degeneration:

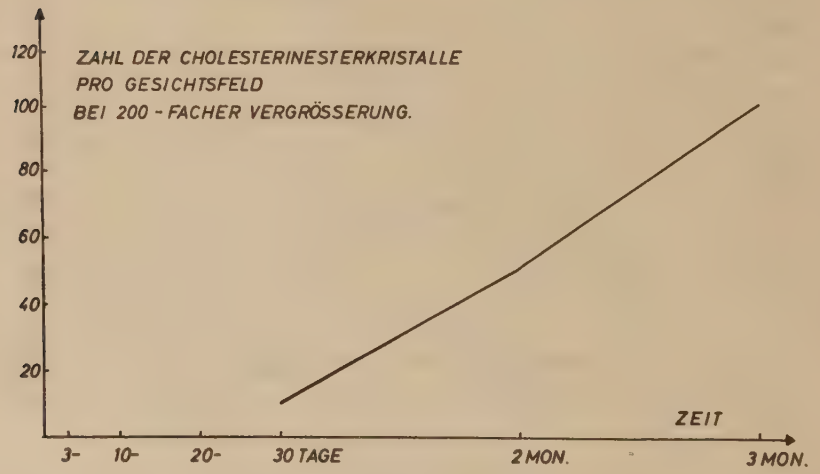


Abb. 9: N.opticus nach 3-monatiger sek. Degeneration. Markscheidenfärbung nach SPIELMEYER. Vergr. 125-fach.

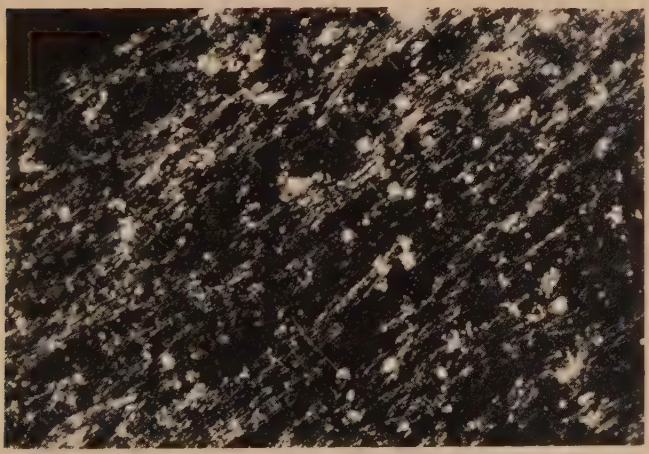


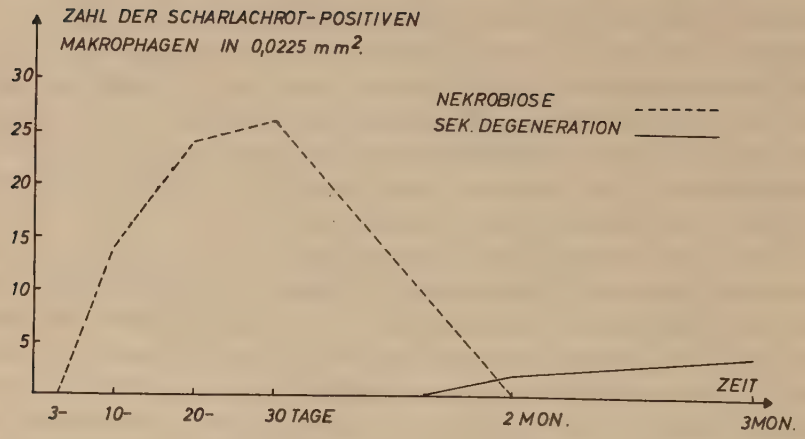
Abb. 10: N.opticus nach 3-monatiger sek. Degeneration. Polarisationsoptische Aufnahme. Die helleuchtenden Bezirke entsprechen den nadelförmigen Cholesterinesterkristallen. Vergr. 200-fach.

Dieselben Kristalle fanden wir auch bei polarisationsoptischer Betrachtung der Scharlachrot-Färbung. Dabei ist klar zu erkennen, daß die Lage der Kristalle nicht identisch mit der Lage der Scharlachrot-positiven Substanzen in den Makrophagen ist. Die Cholesterinesterkristalle leuchten weiß auf, wodurch sie sich auch von rot leuchtenden Scharlachrotkristallen, die in den Präparaten enthalten sind, unterscheiden. Das bedeutet, daß sich Cholesterinester in kristalliner Form nicht mit Scharlachrot anfärben lassen (R.F.OGILVIE 1951, M.CLARA 1965) .

Um dieses negative Färbeverhalten der kristallinen Cholesterinester gegenüber Scharlachrot nochmals zu kontrollieren, stellten wir 14μ dicke Gefrierschnitte von einem Atherom der menschlichen Aorta her und färbten mit Scharlachrot. Dasselbe geschah mit einem Gewebsstück aus dem Großhirn bei einem Fall von orthochromatischer Leukodystrophie (Institut für Hirnforschung, Tübingen, Fall Nr. 174 / 68). Das Ergebnis entsprach in beiden Fällen unseren Beobachtungen am N.opticus bei sekundärer Degeneration: Bei polarisationsoptischer Betrachtung fanden wir massenhaft stark doppelbrechende, aber nicht mit Scharlachrot-positiv gefärbte Kristalle, die in ihrer Lage nicht mit den kräftig Scharlachrot-positiven Makrophagen bei Hellfeldbetrachtung identisch waren. (Siehe Abb. 13 und 14)

e) Verhalten der Scharlachrot-positiven Makrophagen in der traumatisch bedingten Nekrobiose und im Bereich der sekundären Degeneration:

Scharlachrot-positive Substanzen wurden nur in Makrophagen gefunden, was beweist, daß Triglyzeride und Cholesterinester im normalen Myelin nicht in histochemisch nachweisbaren Mengen vorkommen. Sie entstehen erst zu einem relativ späten Zeitpunkt als Ab- und Umbauprodukte in den Makrophagen. Wir fanden, daß dieser Prozess bei der sekundären Degeneration erst nach zwei bis drei Monaten einsetzt.


ZAHL DER SCHARLACHROT-POSITIVEN
MAKROPHAGEN IN 0,0225 mm²
30
25
20
15
10
5
NEKROBIOSE
SEK. DEGENERATION
ZEIT
3-
10-
20-
30 TAGE
2 MON.
3MON.

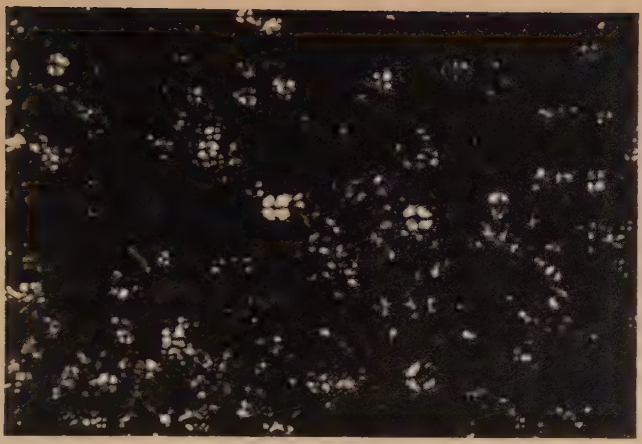


Abb. 11 : N.opticus nach 3-monatiger sek. Degeneration. Polarisationsoptische Aufnahme nach Erhitzen des Schnittes auf 60°C und anschließender Abkühlung. Sphärokristalle mit rotationskonstatem Malteserkreuz (Vgl. polarisationsoptische Analyse nach 1 Monat). Vergr. 800-fach.

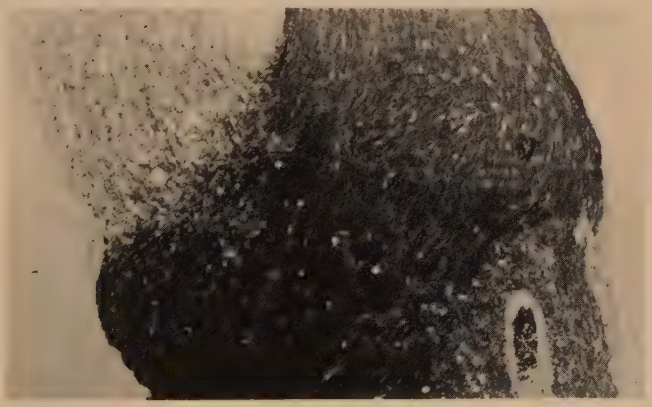


Abb. 12 : Chiasma opticum nach 3-monatiger sek. Degeneration. Färbung nach KLÜVER-BARRERA. Vergr. 62-fach.

D) D I S K U S S I O N .

I. Vorgänge im Bereich der sekundären Faserdegeneration.
a) Histologische Veränderungen an den Markscheiden und an der Neuroglia:

Auf die histologischen Veränderungen bei sekundärer Degeneration im Bereich des Zentralnervensystems (Auflockerung der Markscheidenlamellen, Markballen, elliptische-, kugelförmige- und granuläre Myelinfragmente) soll hier nicht näher eingegangen werden, da sie lange bekannt sind (A.JAKOB 1912) und in neuerer Zeit auch elektronenmikroskopisch untersucht wurden (S.A.LUSE und R.E.McCAMAN 1957, E.TANI 1964, U.J.McMAHAN und R.J.BARRNETT 1966, W.SCHLOTE 1969).

Als früheste Veränderung fanden wir eine Abnahme des durch die Markscheidenlamellen verursachten Gangunterschiedes. (Vgl. polarisationsoptische Analyse nach 3 Tagen). Dieses Phänomen läßt sich mit der Auflockerung und Deformierung der Markscheidenlamellen korrelieren, die in den elektronenmikroskopischen Untersuchungen von R.D.TERRY und J.C.HARKIN (1959), G.GLIMSTEDT und G.WOHLFART (1960) und J.C.LEE (1963) allerdings am peripheren Nerven beschrieben wurde. Am N.opticus wurden derartige erste Veränderungen der Markscheidenlamellen von W.SCHLOTE (1969) festgestellt.

Eine Fragmentation in größere Markballen setzte zwischen dem 10. und 20. Tag nach der Durchtrennung ein; um den 30. Tag wiesen die Myelinbruchstücke mehr Kugel- oder Tröpfchenform, zuweilen auch granuläre Strukturen auf. Nach dem 2. Monat standen dann granuläre Myelinfragmente im Vordergrund. Es sei aber darauf hingewiesen, daß die Desintegration der Markscheiden nicht überall gleichzeitig vor sich geht. Wir fanden an jedem Kontrollzeitpunkt, wenn auch in immer weiter abnehmendem Maße, noch histologisch intakte Markscheiden oder längere Markscheidenbruchstücke. Nach H.v.CREVEL (1958) ist die Geschwindigkeit der Markscheidenfragmentation von der Faserdicke abhängig; J.C.LEE (1963) bemerkt ebenfalls, daß die Markscheiden dickerer Nervenfasern zuerst zerfallen.

Das morphologische Erscheinungsbild des Markscheidenzerfalls

ist also im ZNS und im peripheren Nerven gleich, aber die Markscheidenfragmentation geht im Bereich des ZNS sehr viel langsamer vor sich. Bei unserer Untersuchung lag der Höhepunkt des Markscheidenzerfalls zwischen dem 20. und 30. Tag nach der Durchtrennung; beim peripheren Nerven liegt dieses Maximum innerhalb der ersten 10 Tage (C.R.NOBACK und W.MONTAGNA 1952, R.D.TERRY und J.C.HARKIN 1959, G.GLIMSTEDT und G.WOHLFART 1960, A.A.BARTON 1962, J.C.LEE 1963, E.J.H.NATHANIEL und D.C.PEASE 1963). Einer der Gründe für den protrahierten Markscheidenabbau im ZNS liegt wohl darin, daß der Abbau von Astrozyten bewerkstelligt wird, die zunächst keine Verbindung zu den Markscheiden haben; im peripheren Nerv dagegen stehen die Schwann'schen Zellen in fortdauernder plasmatischer Verbindung zu den Markmänteln und können daher schon aus rein topographischen Gründen die Markscheiden schneller abbauen (W.SCHLOTE 1969).

Die Proliferation der Astrozyten setzt im Bereich der sekundären Degeneration bald nach der Nervdurchtrennung ein, verläuft in den ersten 10 Tagen aber noch sehr diskret. Nach einem Monat findet man etwa doppelt so viele Astrozytenkerne auf der Schnittfläche und nach 2 - 3 Monaten machen sie den hauptsächlichen Bestandteil des Nerven aus. Wir können daher nicht die Untersuchungen von S.A.LUSE (1958) am Kaninchen bestätigen, denn bei diesen Untersuchungen trat erst nach 100 Tagen eine deutliche Proliferation der Astroglia auf. Demnach schreitet die sekundäre Degeneration bei Ratten schneller voran, als bei dieser Tierspezies. C.R.NOBACK und J.A.REILLY (1956) sprachen sich ebenfalls dafür aus, daß die sekundäre Degeneration bei Ratten rascher vor sich geht.

Während der Proliferation der Astrozyten treten Veränderungen in zwei verschiedenen Richtungen auf : Ein Teil der Astrozyten zeigt eine verstärkte Gliafibrillenbildung und übernimmt somit die Defektdeckung. Der andere Teil verliert die Gliafibrillen und bildet sich zu Myelophagozyten um. Die Myelophagozytose erfolgt am N.opticus nur durch in dieser Weise veränderte Astrozyten; mesenchymale Zellen sind nicht beteiligt. (A.JAKOB 1912, F.CRAMER und B.J.ALPERS 1932, S.A.LUSE 1958, W.SCHLOTE 1969).

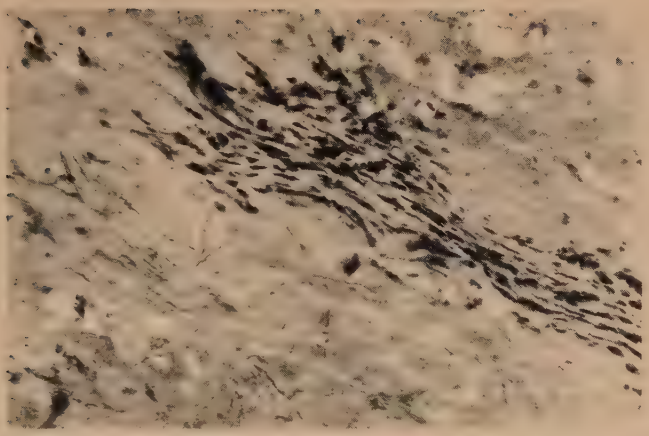


Abb. 13 : Atherom in der Wand der Aorta beim Menschen. Scharlachrot-Färbung. Die Scharlachrot-positiven Markophagen erscheinen schwarz. Vergr. 200-fach.

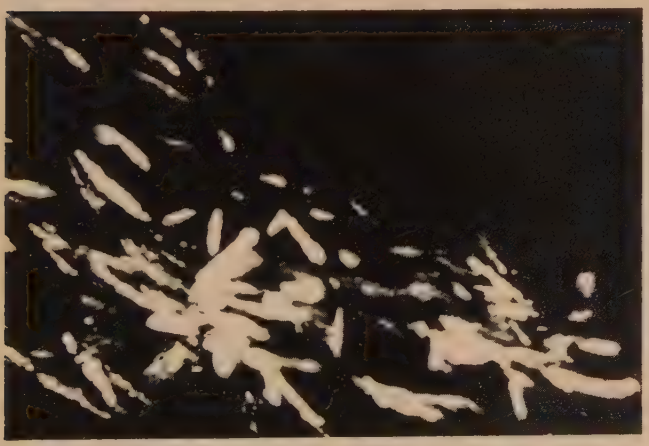


Abb. 14 : Gleiches Gesichtsfeld wie bei Abb. 13. Polarisationsoptische Aufnahme bei Scharlachrot-Färbung. Nichtgefärbte nadelförmige Kristalle leuchten auf. Vergr. 200-fach.

b) Histochemische Veränderungen.

Der histochemische Abbau der Markscheidenlipide verläuft nicht synchron mit der physikalischen Zerstörung der Markscheiden. Man kann im Verlauf des histochemischen Abbaus zwei Stadien unterscheiden: Das erste Stadium ist durch den Abbau der typischen Markscheidenlipide (Cerebroside, Phospholipide und freies Cholesterin) charakterisiert; das histochemische Verhalten des Myelins hat sich aber in qualitativer Hinsicht nicht verändert und entspricht dem des normalen; es handelt sich lediglich um quantitative Veränderungen. Dieses Stadium dauert etwa bis zum 30. Tag. Das zweite Stadium ist durch ein qualitativ verändertes histochemisches Verhalten gekennzeichnet; neben dem weiteren Abbau der typischen Myelinlipide treten jetzt Ab- und Umbauprodukte derselben auf, die im normalen Myelin nicht vorhanden sind (Cholesterinester und Triglyzeride). Dieses Stadium dauert über den 90. Tag hinaus an.

A c e t a l p h o s p h a t i d e : In den Arbeiten von G. MAJNO und M.L.KARNOVSKI (1958) und von E.THOMAS (1969) wird die Plasmal-Reaktion als eine Methode beschrieben, mit der früheste histochemische Veränderungen bei sekundärer Degeneration am peripheren Nerv schon vor der physikalischen Fragmentation der Markscheide nachweisbar sein sollen. Wir konnten ein solches Phänomen in unserer Untersuchung nicht beobachten; die Plasmal-Reaktion zeigte während der ersten 20 Tage keinerlei Veränderungen. Ein Abbau von Acetalphosphatiden fand demnach in diesem Zeitraum nicht statt.

P h o s p h o l i p i d e : Die Spezifität und der Chemismus der Kupferphthalocyaninfarbstoffe ist derzeit nicht vollständig geklärt. A.G.E.PEARSE (1955,1957,1960) fand bei seinen Untersuchungen, daß die positive Reaktion mit Luxol Fast Blue im Bereich der Markscheide von cholinhaltigen Phospholipiden (Lezithin und Sphingomyelin) bewirkt wird. Das Lösungsmittel, in dem der Farbstoff gelöst ist, spielt nach A.G.E.PEARSE eine entscheidende Rolle. Der genannte Autor führte aber seine Untersuchungen mit Reinsubstanzproben in vitro durch; in den Markscheidenlamellen liegen die Phospholipide jedoch als Lipoproteidkomplexe vor. Inwieweit nun diese Proteinkomponente die Farbstoffreaktion be-

einflußt, ist nicht sicher geklärt. D.F.deALMEIDA und A.G.E. PEARSE (1958) sind der Ansicht, daß die Methode mit Kupferphthalocyanin, was die Empfindlichkeit auf Myelinphospholipide betrifft, dem sauren Hämateintest nach BAKER gleichkommt. Wenn wir daher in folgenden Ausführungen vom Abbau der Phospholipide sprechen, so wollen wir darunter das Verschwinden der mit Luxol Fast Blue angefärbten Myelinkomponente verstanden wissen.

Bei unserer Untersuchung trat in den ersten 10 Tagen kein deutlicher Verlust an angefärbter Substanz auf. In den folgenden 20 Tagen nahm die Färbbarkeit um ca. 40 % ab; die nächsten beiden Monate zeigten jeweils einen weiteren leichten Phospholipidverlust. Nach 3 Monaten war die Färbbarkeit um etwa 70 % vermindert. Zwischen dem 10. und 20. Tag traten erstmals zu Myelophagozyten umgewandelte Astrozyten im Bereich der sekundären Degeneration auf, die in ihrem Cytoplasma intensiv blaugrün gefärbte Granula enthielten. Die Zahl dieser Makrophagen stieg kontinuierlich und erreichte nach 3 Monaten etwa das Dreifache des Wertes nach 10 Tagen

C e r e b r o s i d e : Die PAS-Reaktion und die Färbung nach TH.v.HIRSCH und J.PEIFFER zeigten im Verlauf der sekundären Degeneration ein analoges Verhalten, was beweist, daß die Cerebroside für die positive PAS-Reaktion im Bereich der Markscheiden verantwortlich sind; Glykoproteide spielen nur eine sehr unwesentliche Rolle, wie die sehr schwache PAS-Reaktion nach Lipidextraktion zeigt. C.W.M.ADAMS und O.B.BAYLISS (1968) sprachen sich ebenfalls dafür aus, daß die positive PAS-Reaktion im Bereich der Markscheiden im Wesentlichen auf der Anwesenheit von Cerebrosiden beruht.

Das Verhalten der Cerebroside während WALLER'scher Degeneration zeigte erhebliche Unterschiede gegenüber dem Verhalten der Phospholipide. Die PAS-Reaktion war in den ersten 10 Tagen unverändert. Zwischen 10. und 30. Tag trat ein etwas stärkerer Verlust an PAS-positiver Substanz auf (ca. 20 %). In den folgenden zwei Monaten nahm die positive Reaktion kontinuierlich langsam ab; der Defekt an PAS-positiven Myelinfragmenten betrug nach 3 Monaten ca. 40 %. PAS-positive Myelophagozyten wurden zwischen dem 10. und 20. Tag erstmals beobachtet; ihre Zahl stieg in der

Folgezeit kontinuierlich an.

Der Verlust der Phospholipide ist nach 3 Monaten bedeutend weiter fortgeschritten, als jener der Cerebroside. Bei den Letzteren scheint der hauptsächliche Abbau nach 3 Monaten noch bevorzustehen. Der in beiden Fällen mehr oder weniger stark ausgeprägte Verlust zwischen dem 10. und 30. Tag wird sicher z.T. von der Auflockerung und Fragmentierung der Markscheiden vorgetäuscht. Im Falle des Phospholipidabbaus scheint aber ein echter ausgedehnter Abbau schon zu dieser Zeit vorhanden zu sein.

Diesen unseren Ergebnissen stehen die Untersuchungen von R. E.McCAMAN und E.ROBINS (1958,1959) gegenüber, welche das Verhalten der Lipide am N.opticus von Kaninchen biochemisch untersuchten. Genannte Autoren stellten in den ersten 45 Tagen keinen oder nur einen leichten Verlust an Phospholipiden und Cerebrosiden fest. Erst zwischen dem 45. und 100. Tag wird ein ausgedehnter Abbau an Phospholipiden (ca. 50 %) und Cerebrosiden (ca. 35 %) beschrieben. In den folgenden 100 Tagen nehmen die Phospholipide dann nurmehr um 20 % ab, während die Cerebroside in dieser Zeit um weitere 50 % abnehmen. S.A. LUSE und R.E. McCAMAN (1957), die ebenfalls die sekundäre Degeneration am N. opticus von Kaninchen untersuchten, kamen zu den gleichen Ergebnissen, indem auch bei dieser Untersuchung erst zwischen dem 45. und 100. Tag ein stärkerer Lipidverlust auftrat. Eine Phagozytose des degenerierenden Myelins wurde nach 100 Tagen zum ersten Mal bemerkt.

Die zeitliche Diskrepanz zwischen genannten und unseren eigenen Untersuchungen deutet erneut darauf hin, daß die sekundäre Degeneration bei verschiedenen Tierspezies verschieden schnell abläuft (C.R.NOBACK und J.A.REILLY 1956). Der zunächst raschere Abbau der Phospholipide wird, ebenso wie von uns auch von R. E.McCAMAN und E.ROBINS beschrieben. Nach LINDLAR (1967) sind Phosphatide auch ohne Zelleinwirkung spaltbar.

T r i g l y z e r i d e und C h o l e s t e r i n e s t e r : Kristalline Cholesterinester wurden auf histophysikalischem Wege mit Hilfe der Schmelzpunktbestimmung und durch ihr polarisationsoptisches Verhalten bei Rotation (M.CLARA 1965) identifiziert. Nicht kristalline Cholesterinester sind in den

Scharlachrot-positiven Regionen enthalten.

Die normale Markscheide enthält keine histochemisch nachweisbaren Cholesterinester; ebenso waren in den ersten 30 Tagen der sekundären Degeneration keine Cholesterinester im degenerierenden Myelin nachzuweisen. Die ersten Kristalle traten nach 30 Tagen auf. Ihre Zahl stieg in den folgenden zwei Monaten stark an und war nach 3 Monaten ca. zehnmal so hoch wie nach einem Monat.

Eine positive Scharlachrot-Färbung, als Ausdruck eines Abbaus der Myelinlipide zu Triglyzeridfettsäureestern und nicht kristallinen Cholesterinestern, wurde erstmals nach zwei Monaten beobachtet. Wir fanden zu diesem Zeitpunkt einige wenige Makrophagen, welche orangerot gefärbte Granula in ihrem Cytoplasma enthielten. Nach 3 Monaten kamen derartig gefärbte Makrophagen etwas häufiger vor. Fettkörnchenzellen mit gitterförmig umgewandeltem Plasmaleib wurden nicht beobachtet.

c) Ausbreitungsrichtung der sekundären Degeneration.

Die Frage, ob die sekundäre Faserdegeneration simultan, zellulifugal oder zellulipetal vor sich geht, wurde in der Vergangenheit sehr unterschiedlich beantwortet. G.H.PARKER und V.L. PAINE (1934), P.WEISS (1944) und G.CAUSEY und E.PALMER (1950) haben auf Grund von elektrophysiologischen Untersuchungen für ein zellulifugales Fortschreiten der WALLER'schen Degeneration plädiert. S.R.y CAJAL stellte jedoch bereits 1928 ein simultanes Fortschreiten der sekundären Degeneration im gesamten Faserverlauf fest. Letzteres Verhalten wurde auch elektronenmikroskopisch bestätigt (W.SCHLOTE 1969). Wir können dem nur zustimmen, denn wir fanden an keinem Kontrollzeitpunkt histologisch oder histochemisch unterschiedliche Zerfalls- oder Abbaustadien in den einzelnen N.opticus-Abschnitten vor. Von W.SCHLOTE wird ein unterschiedliches Verhalten der Astroglia beschrieben. Nach seinen Beobachtungen tritt eine Proliferation der Glia zunächst im läsionsnahen Bereich auf, die dann langsam distalwärts fortschreitet. Unsere Beobachtungen hingegen zeigen, daß die läsionsnahe Gliaproliferation in erster Linie keine Reaktion der sekundären Degeneration darstellt, sondern vielmehr eine Auswirkung der di-

rekten, mechanischen Verletzung ist. Es soll daher im Folgenden noch einmal auf die Vorgänge bei traumatisch bedingter Nekrobiose im Bereich der Durchtrennung eingegangen werden.

II. Vorgänge im Bereich der mechanisch bedingten Nekrobiose und Vergleich mit der sekundären Degeneration.

Der Nekrobiosebereich breitet sich im Laufe der Degeneration kegelförmig im N.opticus aus; die Kegelspitze zeigt von der Durchtrennungsstelle weg. Dieser Nekrobioseherd läßt sich jederzeit deutlich vom Bereich der sekundären Degeneration unterscheiden. Bereits nach drei Tagen hat er sich ca. 0,6 mm in den Nerv hinein ausgedehnt und ist durch eine exzessive Proliferation der Glia, sowie durch einen deutlichen Lipidverlust gekennzeichnet; Plasmal-Reaktion, PAS-Reaktion und Färbung nach KLÜVER-BARRERA nehmen erheblich ab. Cholesterinesterkristalle und Scharlachrotpositive Makrophagen sind schon nach diesem kurzen Zeitraum massenhaft vorhanden. Nach 10 Tagen reicht der Bereich der Nekrobiose ca. 1,8 - 2,0 mm in den Nerv hinein. Die Markscheiden sind völlig fragmentiert; der gesamte Bereich ist von Makrophagen und Cholesterinesterkristallen ausgefüllt. Nach 20 und 30 Tagen hat sich die Nekrobiose noch etwas weiter ausgedehnt. Positive Farbreaktionen sind nurmehr innerhalb der Makrophagen zu beobachten. Fettkörnchenzellen sind im Unterschied zur sekundären Faserdegeneration vorhanden. Nach 2 Monaten ist der Defekt von Glia ausgefüllt; positive histochemische Farbreaktionen sind nicht mehr nachzuweisen. Der Myelinabbau ist demnach beendet.

Die mechanisch bedingte, direkte Degeneration unterscheidet sich also sowohl durch ihren rascheren Ablauf als auch histologisch (Fettkörnchenzellen !) von der sekundären Degeneration. Ursache dafür ist eine unterschiedliche Zellreaktion auf die verschiedenartigen Reize. Im Bereich der sekundären Degeneration sorgen ausschließlich Makrogliazellen für den Markscheidenabbau; mikrogliöse oder mesenchymale Makrophagen treten nicht auf. Bei der traumatischen Nekrobiose erfolgt jedoch neben der Proliferation der Makrogliazellen ein Reiz auf das Mesenchym; mesenchymale Zellen sind daher mit am Abbau der Markscheiden beteiligt.

Art d. Degeneration	Veränderungen	Normaler N.opticus	Dauer der Degeneration 10 Tage	30 Tage	60 Tage	90 Tage
Traumatisch bedingte Nekrobiose im N.opticus	Desintegration der Markscheiden	Kontinuierlich verlaufende Markscheidenbündel	Vollständige Fragmentation zu Markballen	Granuläre Myelinfragmente	——	——
	Gliazellen	100 %	200 %	300 %	200 %	150 %
	Phospholipide	100 %	30 %	0	0	0
	Cerebroside	100 %	40 %	10 %	0	0
	Krist. Cholesterinester	ø	++	+++	ø	ø
	Scharlachrotpos. Substanz	ø	++	+++	ø	ø
Sek. Degeneration im N.opticus	Desintegration der Markscheiden	Kontinuierlich verlaufende Markscheidenbündel	Auflockerung der Markscheidenlamellen	Markballenbildung	Meist tröpfchenförmige u. granuläre Myelinfragmente	Meist nur noch granuläre Myelinfragmente
	Gliazellen	100 %	125 %	200 %	215 %	250 %
	Phospholipide	100 %	90 %	50 %	35 %	20 %
	Cerebroside	100 %	95 %	80 %	70 %	60 %
	Krist. Cholesterinester	ø	ø	+	++	+++
	Scharlachrotpos. Substanz	ø	ø	ø	+	++

Tabelle 1 : Vergleich zwischen traumatischer Nekrobiose und sekundärer Degeneration.

III. Vergleich zwischen sekundärer Degeneration am N.opticus und jener am peripheren Nerv.

Das Verhalten der Myelinlipide bei WALLER'scher Degeneration wurde in neuerer Zeit von mehreren Autoren am peripheren Nerv untersucht. (N.S.BURT et al. 1950, A.C.JOHNSON et al. 1950, C. R.NOBACK und W.MONTAGNA 1952, C.R.NOBACK und J.A.REILLY 1956, R.E.McCAMAN und E.ROBINS 1958 und 1959, C.W.M.ADAMS 1962, E. THOMAS 1969). Alle Ergebnisse der genannten Autoren entsprechen im Wesentlichen der von C.W.M.ADAMS (1962) angegebenen Zusammenfassung, in der 3 Stadien aufgeführt werden:

1. Eine Anfangsphase von 8 - 10 Tagen Dauer, in der eine physikalische Desintegration der Markscheide stattfindet. Das Myelin und seine Fragmente verhalten sich histochemisch wie normales Myelin.

Im N.opticus verläuft diese Desintegration und Fragmentation wesentlich protrahierter und erreicht ihren Höhepunkt erst zwischen dem 20. und 30. Tag.

2. Das Stadium des chemischen Abbaus, welches mehrere Wochen andauert. Diese Phase ist durch das Verschwinden der typischen Myelinlipide und durch das Auftreten von Ab- und Umbauprodukten (Triglyzeride und Cholesterinester) gekennzeichnet. Nach N.S. BURT et al. (1950) und A.C.JOHNSON et al. (1950) fallen die Cerebroside, freies Cholesterin und Phospholipide im peripheren Nerven bis zum 32. Tag ab und erreichen zu diesem Zeitpunkt ihren tiefsten Wert; danach bleiben sie bis zum 96. Tag konstant niedrig. Die biochemischen Untersuchungen von R.E.McCAMAN und E. ROBINS (1958,1959) bestätigen dieses Verhalten, indem von ihnen in den ersten 45 Tagen ein Myelinlipidverlust von ca. 75 % festgestellt wurde; nach diesen Untersuchungen fallen die Myelinlipide nach diesem Zeitraum weiter ab. In diesem Stadium entstehen Neutralfette als Ab- und Umbauprodukte der Myelinlipide. In den Untersuchungen von C.R.NOBACK und J.A.REILLY (1956) wird zwischen dem 10. und 20. Tag erstmals eine positive Sudan-Färbung beobachtet; die Neutralfette erreichen nach letzteren Autoren um den 30. Tag ihr Maximum und fallen dann wieder ab.

Bei unseren Untersuchungen begann der Myelinlipidabbau ebenfalls zwischen dem 10. und 20. Tag,verlief dann jedoch wesentlich lang-

samer, als im peripheren Nerv. Nach 30 Tagen stellten wir einen Phospholipidverlust von ca. 40 % und einen Abbau an Cerebrosiden von ca. 20 % fest. Cholesterinester wurden erstmals nach einem Monat, Scharlachrot-positive Makrophagen erst nach zwei Monaten beobachtet. Nach drei Monaten war der Myelinabbau im N. opticus noch nicht beendet. Nach diesem Zeitraum wiesen noch etwa 30 % des ursprünglich gefärbten Myelins eine positive Reaktion mit Luxol Fast Blue auf; 50 - 60 % zeigten weiterhin eine positive PAS-Reaktion.

3. Ein reparatives Stadium. Es beginnt nach der Resorption der Markscheidentrümmer; die Myelinlipide steigen wieder an und erreichen nach 144 Tagen etwa 44 % des Normalwertes. (N.S.BURT et al. 1950).

Diese Phase unterbleibt im Bereich des ZNS, da die Axone nicht regeneriert werden. Die Myelinlipide, besonders die Cerebroside fallen in der Folgezeit weiter ab (R.E.McCAMAN und E.ROBINS 1958, 1959).

M.WOLMAN (1957, 1968) stellte während der ersten vier Tage der sekundären Degeneration am N.ischiadicus und Frontalhirn der Ratte bei Anwendung histochemischer Untersuchungsmethoden das vorübergehende Auftreten eines Myelinabbauproduktes fest, welches er als nicht lipidlösliches, mäßig wasserlösliches, schwach saures, hexosaminhaltiges Polysaccharid deutete. Die von uns angewandte PAS-Reaktion nach Lipidextraktion zeigte aber in diesem Zeitraum keine Zunahme der Farbintensität.

Wie bereits früher erwähnt, liegt eine der Ursachen für den langsameren Markscheidenabbau im Bereich des ZNS darin, daß die Astrozyten zunächst nicht in direkter Beziehung zu den Markscheiden stehen. Eine weitere Ursache liegt in ihrer relativ geringgradigen Vermehrung. M.ABERCROMBIE und M.L.JOHNSON (1946) beschreiben in ihren Untersuchungen am N.tibialis des Kaninchens in den ersten 25 Tagen der sekundären Degeneration einen Anstieg der Schwann'schen Zellen auf das 13-fache des Normalen; danach nehmen die Kernzahlen wieder ab und machen nach 225 Tagen nurmehr die Hälfte dieses Gipfelwertes aus. In unseren Untersuchungen am N.opticus fanden wir nach 3 Monaten hingegen nur eine Zellkernvermehrung um das 3-fache.

E) Z U S A M M E N F A S S U N G .

1. Die sekundäre Degeneration wurde am N.opticus der Ratte nach Transsectio retrobulbaris im Verlauf der folgenden 3 Monate histologisch, polarisationsoptisch und histochemisch untersucht.
2. Befunde zwischen 1. und 10. Tag: Geringgradige Gliazellvermehrung. Bei polarisationsoptischer Betrachtung findet man eine Abnahme des Gangunterschiedes (Auflockerung und Deformierung der Markscheidenlamellen). Das histochemische Verhalten der Markscheide zeigt keine Veränderungen.
3. Befunde zwischen 10. und 30. Tag: Gliazellvermehrung auf das Doppelte. Der Gangunterschied der Markscheiden ist auf die Hälfte des Normalen zurückgegangen. Die Markscheiden sind fragmentiert. Die Myelophagozytose durch umgewandelte Astrozyten setzt ein; man findet in zunehmendem Maße sowohl PAS-positive, als auch mit Luxol Fast Blue positiv gefärbte Makrophagen. Der beginnende chemische Abbau der typischen Myelinlipide ist mit histochemischen Methoden nachweisbar: Nach 30 Tagen sind etwa 40 % der Phospholipide und etwa 20 % der Cerebroside verschwunden.
4. Befunde zwischen 30. und 90. Tag: Die Gliazellen steigen weiter an, nach 3 Monaten stellen sie den wesentlichsten Bestandteil des Nerven dar. Der Gangunterschied der Markscheiden nimmt kontinuierlich ab und beträgt nach 3 Monaten noch 25 - 30 % des Normalen. Die meisten Markscheiden sind vollständig fragmentiert. Die PAS- und luxol Fast Blue-positiven Makrophagen nehmen weiter zu. Phospholipide und Cerebroside werden weiter abgebaut, wenn auch nicht mehr so rasch, wie zwischen dem 10. und 30. Tag. Nach 3 Monaten sind etwa 70 % der Phospholipide und 40 - 50 % der Cerebroside histochemisch nicht mehr nachweisbar. Um- und Abbauprodukte der Myelinlipide in Form von Cholesterinestern und Triglyzeriden treten zwischen dem 30. und 60. Tag auf.
5. Die sekundäre Degeneration schreitet am gesamten Faserverlauf simultan fort; an keinem der Kontrollzeitpunkte finden sich

unterschiedliche Zerfallsstadien in den einzelnen Nervenabschnitten.

6. Die sekundäre Degeneration scheint bei Ratten rascher fortzuschreiten, als bei anderen Tierarten.
7. Die Unterschiede zwischen sekundärer Degeneration und mechanisch bedingter Nekrobiose wurden diskutiert, ebenso die Unterschiede zwischen sekundärer Degeneration im Bereich des ZNS und sekundärer Degeneration im Bereich des peripheren Nerven (Siehe Tabelle Seite 28).

F) L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S .

1. ABERCROMBIE,M. and JOHNSON,M.L. : Quantitative histology of Wallerian degeneration. I. Nuclear population in rabitt sciatic nerve.
   J. Anat. 80, 37 - 50 (1946).
2. ADAMS,C.W.M. : A histochemical method for the simultaneous demonstration of normal and degenerating myelin.
   J. Path. Bact. 77, 648 - 650 (1959).
3. ADAMS,C.W.M. : A perchloric acid - naphthoquinone method for the localization of cholesterol.
   Nature 192, 331 - 332 (1961).
4. ADAMS,C.W.M. : The histochemistry of the myelin sheath.
   In : Neurochemistry, 2. Ed. Springfield (Ill.): Charles C. Thomas 1962.
5. ADAMS,C.W.M. and BAYLISS,O.B. : Myelin carbohydrates.
   J. Histochem. Cytochem. 16, 486 - 487 (1968).
6. ALMEIDA,D.F.de and PEARSE,A.G.E. : Comparative histochemistry of lipids in relation to myelination in rabitt brain.
   J. Neurochem. 3, 132 - 138 (1958).
7. BARKA,T. and ANDERSON,P.J. : Histochemistry.
   New York, Evanston and London : Hoeber Medical Division 1963.
8. BARTON,A.A. : An electron microscope study of degeneration and regeneration of nerve.
   Brain 85, 799 - 808 (1962).
9. BLÜMCKE,S., THEMANN,H. and NIEDORF,H.R. : Deposition of glycogen during the degeneration and regeneration of the sciatic nerves of rabitts.
   Acta Neuropath. 5, 69 - 81 (1965).
10. BURT,N.S., McNABB,A.R. and ROSSITER,R.J. : Chemical studies of peripheral nerve during Wallerian degeneration. 2. Lipids after nerve crush (Axonotmesis).
    Biochem. J. 47, 318 - 323 (1950).

11. CAJAL,S.R.y : Degeneration and regeneration of the nervous system. Vol. I.
Ed. R.M.May. New York : Hafner Publishing Co. 1959.

12. CAUSEY,G. and PALMER,E. : Early changes in the shape and size of a nerve fiber after crushing.
J. Anat. 84, 406 - 420 (1950).

13. CLARA,M. : Methoden der Lipidhistochemie.
In : Handbuch der Histochemie, Bd. V/1. Herausgeber : W.Graumann und K.Neumann. Stuttgart : G.Fischer 1965.

14. CRAMER,F. and ALPERS,B.J. : The functions of the glia in the secondary degeneration of the spinal cord. The oligodendroglia as phagocytes.
Arch. Path. 13, 23 - 55 (1932).

15. CREVEL,H.v. : The rate of secondary degeneration in the central nerval system : An experimental study in the pyramid and optic nerves of the cat.
Leiden : Eduard IJDO N.V. 1958.

16. CUZNER,M.L., DAVISON,A.N. and GREGSON,N.A. : The chemical composition of vertebrate myelin and microsomes.
J. Neurochem. 12, 469 - 481 (1965).

17. DIEZEL,P.B. : Die Stoffwechselstörungen der Sphingolipoide. Monographien aus dem Gesamtgebiete der Psychiatrie und Neurologie, Heft 80. Berlin, Göttingen, Heidelberg : Springer 1957.

18. EDGAR,C.W.F. and DONKER,C.H.M. : Influence of lipid solvents on sphingolipids (sphingomyelins, cerebrosides, gangliosides) in tissue sections.
Acta Neurologica et Psychiatrica Belgicae 5, 451 - 461 (1957).

19. EL-EISHI,H.I. : Biochemical and histochemical studies on myelination in the chick embryo spinal cord.
J. Neurochem. 14, 405 - 412 (1967).

20. EVANS,M.J. and FINEAN,J.B. : The lipid composition of myelin from brain and peripheral nerve.
J. Neurochem. 12, 729 - 735 (1965).

21. FEIGIN,I. : A method for the histochemical differentiation of cholesterol and its esters.
J. Biophys. Biochem. Cytology 2, 213 - 214 (1956).

22. GALLYAS,F. : The histochemical identification of phosphoglycerides in myelin.
J. Neurochem. 10, 125 - 126 (1963).

23. GLIMSTEDT,G. and WOHLFART,G. : Electron microscopic observations on Wallerian degeneration in peripheral nerves.
Acta morphologica Neerlando - Scandinavica Vol. III No. 2, 135 - 146 (1960).

24. HIRSCH,TH.v. und PEIFFER,J. : Über morphologische Methoden in der Differentialdiagnose von Leukodystrophien und Lipoidosen.
Archiv für Psych. 194, 88 - 104 (1955).

25. JAKOB,A. : Über die feinere Histologie der sekundären Faserdegeneration in der weißen Substanz des Rückenmarks. (Mit besonderer Berücksichtigung der Abbauvorgänge).
Histologische und histopathologische Arbeit von NISSL - ALZHEIMER 5, 1 - 181 (1912).

26. JOHNSON,A.C., McNABB,A.R. and ROSSITER,R.J. : Chemistry of Wallerian degeneration; review of recent studies.
Arch. Neurol. 64, 105 - 121 (1950).

27. LAPHAM,L.W., JOHNSTONE,M.A. and BRUNDJAR,K.H. : A new paraffin method for the combined staining of myelin and glial fibers.
J. Neuropath. exp. Neurol. 23, 156 - 160 (1964).

28. LEE,C.J. : Electron microscopy on Wallerian degeneration.
J. Comp. Neurol. 120, 65 - 80 (1963).

29. LINDLAR,F. : Zum chemischen Nachweis postmortaler und intravitaler Lipoidveränderungen im Gehirn.
Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 5/3, 101 - 102 (1967).

30. LUSE,S.A. : Ultrastructure of reactive and neoplastic astrocytes.
Laboratory Investigation 7, 401 - 417 (1958).

31. LUSE,S.A. and McCAMAN,R.E. : Electron microscopy of Wallerian degeneration in the optic and tibial nerves.
Am. J. Path. 33, 586 - 603 (1957).

32. MAJNO,G. and KARNOVSKI,M.L. : A histochemical and morphologic study of myelination and demyelination.
J. exp. Med. 108, 197 - 214 (1958).

33. McCAMAN,R.E. and ROBINS,E. : Biochemical comparison of Wallerian degeneration in the central and peripheral nervous system.
Neurology 8, 86 - 87 (1958).

34. McCAMAN,R.E. and ROBINS,E. : Quantitative biochemical studies of Wallerian degeneration in the central and peripheral nervous system. I. and II.
J. Neurochem. 5, 18 - 42 (1959).

35. McMAHAN,U.J. and BARRNETT,R.J. : Fine structure of degenerating axons and myelin in the visual system of rats.
J. Cell Biology 31, 132 A (1966).

36. MÜLDNER,H.G., WHERETT,I.R. and CUMINGS,J.N. : Some applications of thin-layer chromatography in the study of cerebral lipids.
J. Neurochem. 9, 607 - 611 (1962).

37. NATHANIEL,E.J.H. and PEASE,D.C. : Degenerative changes in the rat dorsal roots during Wallerian degeneration.
J. Ultrastruct. Res. 9, 511 - 532 (1963).

38. NOBACK,C.R. and MONTAGNA,W. : Histochemical studies of the myelin sheath and its fragmentation products during Wallerian degeneration. I. Lipids.
J. Comp. Neurol. 97, 211 - 241 (1952).

39. NOBACK,C.R. and REILLY,J.A. : Myelin sheath during degeneration and regeneration. II. Histochemistry.
J. Comp. Neurol. 105, 333 - 354 (1956).

40. OGILVIE,R.F. : Pathological Histology. 4. Ed.
Edinburgh : E. & S. Livingstone 1951

41. PARKER,G.H. and PAINE,V.L. : Progressive nerve degeneration and its rate in the lateral line nerve of the catfish.
Amer. J. Anat. 54, 1 - 25 (1934).

42. PEARSE,A.G.E. : Copper phthalocyanins as phospholipid stains.
J. Path. Bact. 70, 554 - 557 (1955).

43. PEARSE,A.G.E. : The chemistry of copper phthalocyanine staining for phospholipids and its application to the lipidosis.
In : Cerebral lipidosis. Ed. N.J.Cumings. Oxford : Blackwell Sci. Publ. 1957.

44. PEARSE,A.G.E. : Histochemistry. 2. Ed.
London : J. & A. Churchill 1960.

45. ROMEIS,B. : Mikroskopische Technik. 16. Aufl.
München, Wien : R. Oldenbourg 1968.

46. ROSSITER,R.J. : The myelin sheath, metabolism of myelin and experimental demyelination.
In : Neurochemistry, 2. Ed. Springfield (Ill.): Charles C. Thomas 1962.

47. SCHLOTE,W. : Die progressiven und regressiven Strukturveränderungen des N.opticus der Ratte nach experimentellen Läsionen.
Schriftenreihe Neurologie. Berlin, Heidelberg, New York : Springer 1969 im Druck.

48. TANI,E. : Electron microscopic study on Wallerian degeneration of optic nerve.
J. Neuropath. exp. Neurology 23, 162 A (1964).

49. TERRY,R.D. and HARKIN,J.C. : Wallerian degeneration and regeneration of peripheral nerves.
In : The Biology of Myelin. Ed. S.A.Korey.
New York : P.B.Hoeber 1959.

50. THOMAS,E.: Histotopochemie und Histopathochemie des peripheren Nervensystems bei Verletzungen und Tumoren.
Veröffentlichung aus der morphologischen Pathologie, Heft 80. Stuttgart: G.Fischer 1969, im Druck.

51. VANDENHEUVEL,F.A.: Study of biological structure at the molecular level with stereomodel projections.
I. The lipids in the myelin sheath of nerve.
The Journal of the American Oil Chemists' Society 40, 455 - 471 (1963).

52. VIAL, J.D.:The early changes in axoplasma during Wallerian degeneration.
J. Biophys. and Biochem. Cytol. 4, 551-556 (1958).

53. WEISS,P.: Damming of axoplasma in constricted nerv: A sign of perpetual growth in nerve fibers.
Anat. Rec. 88, 464 - 479 (1944).

54. WENDELL-SMITH,C.P., BLUNT,M.J. and BALDWIN,F.: The ultrastructural characterization of macroglial cell types.
J. Comp.Neurol. 127, 219 - 240 (1966).

55. WOLGRAM,F. and ROSE, A.S.: A study of some component proteins of central and peripheral nerve myelin.
J. Neurochem 8, 161-168 (1961).

56. WOLMAN,M.: Histochemical study of changes occuring during the degeneration of myelin.
J. Neurochem. 1, 370-376 (1957).

57. WOLMAN,M.: Histochemistry of demyelination and myelination.
J.Histochem. Cytochem. 16, 803-807 (1968).

Mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas zu dieser Abhandlung gilt Herrn Privatdozent Dr. med. W. SCHLOTE.

Ferner danke ich Frl. R. ANSORGE für ihre Hilfe bei der Herstellung der Präparate und Herrn Präparator H. GRÜNINGER, der mir bei den Tierexperimenten zur Seite stand.

L E B E N S L A U F .

Als Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Sigmund Mayer-Rosa und seiner Ehefrau Hanni, geb. Hanagarth, wurde ich, Peter Mayer-Rosa, am 5. August 1943 in Freiburg i. Br. geboren.

Meine Schulzeit verbrachte ich am Progymnasium in Oberndorf a. N. und am Leibniz - Gymnasium in Rottweil a. N., wo ich im Frühjahr 1963 die Reifeprüfung ablegte. Nach einer einjährigen Militärzeit begann ich im Wintersemester 1964/65 das Studium der Humanmedizin an der Eberhard - Karls - Universität in Tübingen und schloß es auch an dieser Universität mit dem Staatsexamen im Sommer 1970 ab.